

# 三种内寄生蜂寄生对小菜蛾幼虫精子发生的影响

蔡东章<sup>1</sup>, 白素芬<sup>1</sup>, 李欣<sup>1</sup>, 陈学新<sup>2,\*</sup>

(1. 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002; 2. 浙江大学昆虫科学研究所, 杭州 310029)

**摘要:** 内寄生蜂寄生可能会引起寄主的寄生性去势。对小菜蛾 *Plutella xylostella* 与菜蛾啮小蜂 *Oomyzus sokolowskii* Kurdumov (膜翅目: 姬小蜂科)、半闭弯尾姬蜂 *Diadegma semiclausum* Hellén (膜翅目: 姬蜂科)、菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia plutellae* (Kurdj.) (膜翅目: 茧蜂科) 3 个寄生体系, 利用形态学方法和蛋白质技术, 研究了寄生对小菜蛾幼虫精子发生的影响。结果表明, 菜蛾啮小蜂寄生对寄主的精子发生过程没有影响。半闭弯尾姬蜂寄生造成寄主精母细胞的细胞核畸形, 精细胞的染色质超浓缩并趋向核膜, 但能形成少量的精子。半闭弯尾姬蜂寄生会导致寄主精巢总蛋白的含量显著下降。菜蛾盘绒茧蜂寄生对小菜蛾幼虫精子发生的抑制程度最强, 被寄生寄主的精母细胞出现肿胀, 核膜皱缩, 胞质中的线粒体发生病变, 精细胞的染色体也出现超浓缩并趋向核膜, 大量的精子溶解, 无正常的精子形成, 其精巢总蛋白含量的下降程度比姬蜂寄生的更为明显, 且导致分子量为 63.4 kD 的主蛋白缺失。

**关键词:** 内寄生蜂; 菜蛾啮小蜂; 半闭弯尾姬蜂; 菜蛾盘绒茧蜂; 小菜蛾; 精子发生; 寄生性去势

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)06-0908-10

## Effects of parasitization by three endoparasitoids on spermatogenesis in their hosts, *Plutella xylostella* larvae

CAI Dong-Zhang<sup>1</sup>, BAI Su-Fen<sup>1</sup>, LI Xin<sup>1</sup>, CHEN Xue-Xin<sup>2,\*</sup> (1. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract:** Parasitic castration often takes place in host insects parasitized by endoparasitoids. Using the morphological method and protein technology, we studied the effects of parasitization on the testicular development of *Plutella xylostella* parasitized by *Oomyzus sokolowskii* Kurdumov (Hymenoptera: Eulophidae), *Diadegma semiclausum* Hellén (Hymenoptera: Ichneumonidae) or *Cotesia plutellae* (Kurdj.) (Hymenoptera: Braconidae), respectively. The results showed that neither the testicular appearance and structure of the host larvae, nor the content and categories of proteins extracted from its host testes changed compared with the control when the host larvae were parasitized by *O. sokolowskii*. However, when parasitized by *D. semiclausum*, the testicular development of *P. xylostella* larvae was adversely affected with deformed nuclei and condensation of chromatin observed in germ cells, but some elongated sperms could still come into being in the testes of parasitized larvae; the content of proteins in a pair of testes decreased significantly after parasitization, but the constitution of proteins had no alteration compared with that of the control. The most pronounced parasitic castration was observed in the host larvae parasitized by *C. plutellae*, spermatogenesis in the parasitized larvae was inhibited completely, many degenerated testicular cells and the debris of sperm were found in the atrophic testes, and the content of total proteins in these testes sharply declined. Furthermore, SDS-PAGE profiles of testicular total proteins revealed that a protein of an approximate molecular mass of 63.4 kD was absent in testes of *P. xylostella* larvae parasitized by *C. plutellae* compared with the non-parasitized host larvae.

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(30471168, 30370959); 教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目(NCET-04-0521); 教育部创新团队项目(IRT0355)

**作者简介:** 蔡东章, 男, 1980 年生, 河南信阳人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生理生化

\* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: xxchen@zju.edu.cn

收稿日期 Received: 2006-06-13; 接受日期 Accepted: 2006-07-31

**Key words:** Endoparasitoids; *Oomyzus sokolowskii*; *Diadegma semiclausum*; *Cotesia plutellae*; *Plutella xylostella*; spermatogenesis; parasitic castration

菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia plutellae* (Kurdj.) 膜翅目:茧蜂科 半闭弯尾姬蜂 *Diadegma semiclausum* Hellén (膜翅目:姬蜂科) 和菜蛾啮小蜂 *Oomyzus sokolowskii* Kurdumov (膜翅目:姬小蜂科) 以下分别简称茧蜂、姬蜂、小蜂) 是世界性蔬菜害虫小菜蛾 *Plutella xylostella* 的 3 种优势内寄生蜂, 在我国广泛分布, 自然控害能力较强。据报道, 茧蜂的自然寄生率为 20% ~ 60%, 高时可达 80% 以上(汪信庚等, 1998)。姬蜂通过引进, 已在我国云南等地成功定居; 小蜂在亚洲和非洲的几个国家也都记载有较高寄生率(刘树生等, 2000)。因此, 加强对这 3 种蜂, 特别是对它们调控能力的研究有助于改善小菜蛾难以控制的局面, 并可为小菜蛾的生物防治提供新的策略和途径。

内寄生蜂寄生会抑制寄主昆虫内生殖系统的发育, 称为寄生性去势, 但其机制尚不明确。Digilio 等(2000)指出蚜茧蜂 *Aphidius ervi* 毒液中分子量为 21 kD 和 36 kD 的蛋白是引起豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum* 生殖力下降的主要原因。由此可见, 寄生蜂携带的寄生因子会导致寄主昆虫生殖力下降。寄生蜂引起鳞翅目昆虫的寄生性去势已在多个寄生体系作了不同程度的研究( Tagashira 和 Tanaka, 1998)。对于雄性寄主, 其精巢作为一种相对独立的器官, 易受到寄生因子的影响, 因此适于研究寄生对寄主产生的影响以及寄生因子对寄主器官的作用机制, 为进一步研究昆虫不育提供了新的思路。

本研究的 3 个寄生体系中, 茧蜂、姬蜂和小蜂分别携带不同的寄生因子。茧蜂产卵寄生小菜蛾的同时, 将多分 DNA 病毒( polydnavirus, PDV )毒液等寄生因子注入寄主体内, 蜂卵孵化时又产生了畸形细胞(白素芬等, 2002)及随后的幼蜂分泌物。姬蜂与茧蜂相比缺乏畸形细胞, 而小蜂的主要寄生因子为毒液, 没有 PDV 和畸形细胞。内寄生蜂为保证其子代在寄主幼虫体内的成功发育, 必定要与寄主的组织、器官争夺营养资源, 但 3 种蜂幼虫摄取营养的方式及其来源也有所不同, 可能会对寄主精子发生有不同程度的影响。本实验将从精巢形态和蛋白质水平的差异加以研究, 以明确拥有不同寄生因子的寄生蜂对寄主昆虫的调控能力。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试昆虫

小菜蛾在(25 ± 1)℃, 相对湿度 60% ~ 80%, 光周期 14L:10D, 光照强度 1 000 ~ 1 500 lx 的人工气候室内用甘蓝饲养, 3 种寄生蜂分别以适龄小菜蛾幼虫续代保种, 羽化后的成蜂用 10% 的蜂蜜在保蜂盒( 直径 10 cm, 高 20 cm, 上下开孔用纱网封闭 )内饲养。

### 1.2 被寄生寄主的获得

茧蜂或姬蜂寄生方法: 将交配过的茧蜂或姬蜂雌蜂 1 头收集在指形管中, 接入预先挑选的 3 龄初小菜蛾幼虫 1 头, 一次寄生行为发生后, 再接入下 1 头大小发育一致的小菜蛾, 直至实验所需头数。将被寄生过的小菜蛾幼虫接到新鲜的甘蓝叶片上, 置于小养虫笼( 直径 15 cm、高 10 cm )内, 在上述条件下饲养。

小蜂寄生方法: 挑选 30 头大小发育一致的 3 龄初小菜蛾幼虫接入有新鲜甘蓝叶片的小养虫笼内, 然后吹入 15 ~ 20 头交配过的小蜂, 群体寄生 4 h 后用吸虫管吸出小蜂, 在上述条件下饲养被寄生后的小菜蛾幼虫。

各寄生处理分别记录下寄生的时间, 同时设未被寄生的对照。甘蓝叶片的叶柄插入盛水的玻璃瓶中, 隔日更换一次新鲜叶片。

### 1.3 精巢发育体积的测量及形态观察

挑选 150 头大小发育一致的 2 龄中期的小菜蛾幼虫接到一株长势良好的甘蓝上, 在上述条件下饲养, 于 0、24、48、72、96 和 120 h 分别挑出 20 头小菜蛾, 解剖出精巢( 每头只选 1 个精巢 ), 在 Leica MZ 16A 解剖镜下测其长( L )、宽( W )和厚( T ), 长、宽和厚分别取平均值, 根据公式  $V = \pi/4(LWT)$  计算出精巢体积( Tagashira 和 Tanaka, 1998 ), 并用 Excel 2000 作出体积的时间增长曲线。

4 个不同处理于寄生后第 5 天( 对照中未被寄生小菜蛾幼虫此时为 4 龄末 )各选 1 头处于该处理发育平均水平的小菜蛾幼虫, 在鳞翅目生理盐水中解剖出精巢( 被寄生的寄主应检查幼蜂的发育情况是否正常 ), 在 Leica MZ 16A 体视镜下观察并拍照。

### 1.4 精巢半薄和超薄切片的制作与观察

取被寄生后第 5 天的小菜蛾幼虫,解剖取出精巢。各处理挑选发育处于平均水平的精巢在 2.5% 戊二醛中 4℃ 固定过夜, pH 7.4 的 PBS 漂洗 3 次, 4% 银酸后固定 1 h, PBS 漂洗, 梯度酒精脱水, 100% 丙酮再脱水, 包埋剂 (SPURR 树脂) 渗透过夜, 最后用 SPURR 树脂 70℃ 下包埋。树脂块先用半薄切片机 (LBK BROMMA 11800) 切片 (厚 2  $\mu\text{m}$ ), 1% 的次甲基蓝染色, Leica IDM IBR 倒置相差显微镜观察拍照; 剩余树脂块继续做超薄切片 (厚 70 nm), 醋酸铀和柠檬酸铅染色, JEM-1230 透射电镜 (日本 JEOL 公司生产) 观察并拍照。

### 1.5 精母细胞玻片的制备

取各处理被寄生后第 5 天的小菜蛾幼虫精巢 1 对, 在鳞翅目生理盐水中剔除精巢外鞘及脂肪体, 移入 1% 的柠檬酸钠中低渗 15 min 后 (付建业等, 2005), 置于干净的载玻片上, 用固定液 I (3 份无水乙醇: 3 份冰醋酸: 4 份水) 轻轻洗涤后, 滴加 1 滴于精巢小管上, 用解剖针将其切碎, 然后滴加 1 滴固定液 II (1 份无水乙醇: 1 份冰醋酸), 待固定液 II 将干时, 滴加 1 滴冰醋酸原液自然风干, 再用 1/10 Giemsa 染色 20 min 后蒸馏水冲洗 (常平安等, 2001), 风干后在 Leica IDM IBR 相差显微镜下观察并拍照。

### 1.6 精巢总蛋白的电泳及测定

取解剖出的各处理小菜蛾幼虫精巢放入适量的 PBS (含 0.5 mmol/L PMSF、2 mmol/L DTT 及少量的 PTU) 中, 冰浴匀浆 10 min, 超声波处理 3 s, 4℃ 5 000  $\times g$  离心 10 min, 上清液 -70℃ 保存备用。采用 9% 分离胶进行 SDS-PAGE, 上样前样品 100℃ 煮沸 3 min, 12 000  $\times g$  离心去杂。80 V 恒压电泳, 考马斯亮蓝染色, 脱色后在 GS-800 Calibrated Densitometer 凝胶扫描系统下拍照、分析。

精巢蛋白溶液制备方法同上。各处理设 3 个重复, 按 Bio-Rod 方法, 用 Mini-Eppendorf 分光光度计测其蛋白含量, 用 DPS 软件对实验数据进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 寄生对小菜蛾精巢发育的影响

小菜蛾幼虫精巢的体积在 4 龄中、后期迅速增大, 呈指数增长, 精巢发育的时间曲线如图 1 所示。在发育过程中其颜色由乳白色逐渐变为黄色。小菜蛾幼虫精巢在预蛹时开始愈合, 到蛹期完全愈合为一个半球形精巢。

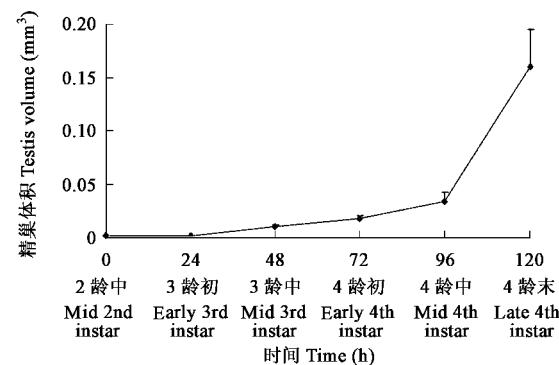


图 1 小菜蛾幼虫精巢发育的时间曲线

Fig. 1 Curve of testicular volume with the increase of age of the non-parasitized host larvae

图 2 为 4 个处理小菜蛾幼虫精巢的形态比较。未被寄生小菜蛾幼虫 4 龄末精巢呈黄色, 4 个精巢小管都很饱满; 小蜂寄生后, 小菜蛾精巢在体积和颜色上与正常精巢无明显差别; 姬蜂寄生后抑制了小菜蛾精巢的发育, 精巢体积明显比对照小, 且影响了精巢鞘上黄色物质的积累; 茧蜂寄生也明显抑制了小菜蛾精巢的发育, 精巢体积增长缓慢, 且精巢鞘上黄色物质积累很少, 因此呈浅黄色。

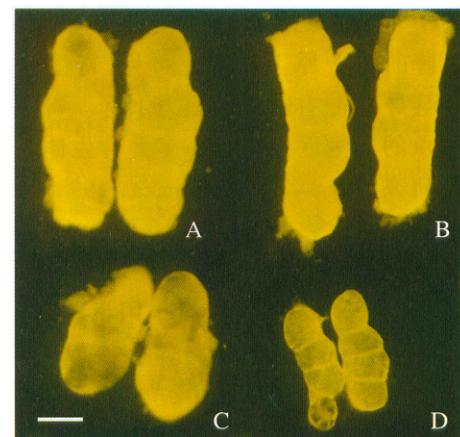


图 2 未被寄生 (A) 与被菜蛾啮小蜂 (B) 半闭弯尾姬蜂 (C) 菜蛾盘绒茧蜂 (D) 分别寄生后的小菜蛾幼虫精巢的形态比较

Fig. 2 Morphology of the testes of the non-parasitized *Plutella xylostella* larvae (A) and those parasitized by *Oomyzus sokolowskii* (B), *Diadegma semiclausum* (C) and *Cotesia plutellae* (D), respectively  
Scale bar = 200  $\mu\text{m}$ .

### 2.2 寄生引起小菜蛾幼虫精巢显微结构的变化

图 3 (A) 为 3 龄中期小菜蛾幼虫精巢的横切面, 有大量的精原细胞和精母细胞, 3 龄中期以前为精母细胞积累期, 4 龄初开始出现伸长的精子, 其数量逐渐增多, 因此精子占整个精巢的比例也逐渐增加 (图 3: B、C 和 D 分别为 4 龄初、中和末期精巢的横

切面),此时为精巢的迅速发育期(图1)。精巢中生精细胞(spermatogenic cells)分布规则,顶部有较大的营养细胞端胞,其周围紧密排列着多个精原细胞,紧接着是成团的精母细胞,形成精母细胞囊,根据所处的分裂时期不同又可分为初级精母细胞和次级精母细胞,最后分裂为单倍体的精细胞,在精巢的下端精细胞逐渐伸长,形成成束的成熟精子。

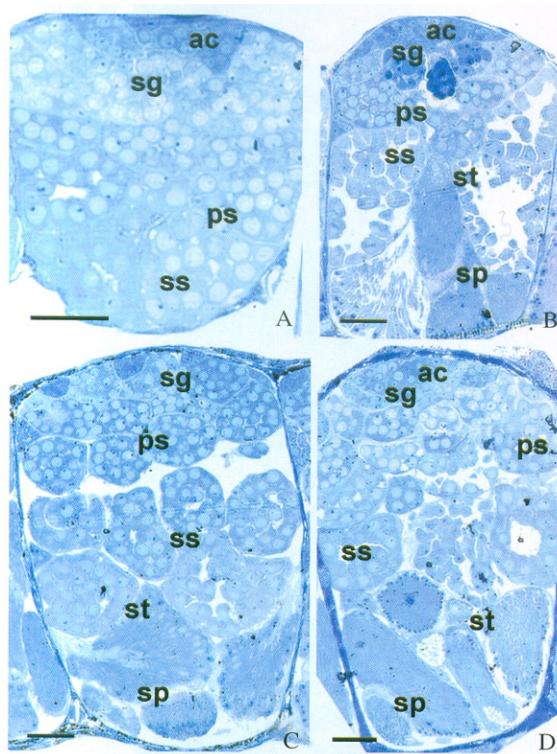


图3 未被寄生小菜蛾幼虫3龄中(A)4龄初(B)中(C)末(D)期精巢横切面

Fig. 3 Morphological sequence of spermatogenesis in testes of the non-parasitized mid 3rd instar (A), early (B), mid (C) and late (D) 4th instar larvae of *Plutella xylostella*

ac:端胞 Apical cell; sg:精原细胞 Spermatogonia; ps:初级精母细胞 Primary spermatocytes; ss:次级精母细胞 Secondary spermatocytes; st:精细胞 Spermatids; sp:精子 Sperm. 下同 The same below. 标尺 Scale bars = 30  $\mu$ m.

图4(A)为小蜂寄生后第5天小菜蛾幼虫精巢的横切面,各时期的生精细胞未见异常,也能形成大量的精子,与同期未被寄生小菜蛾精巢的发育状态相同。姬蜂寄生后第5天的小菜蛾幼虫精子数量明显减少(图4B)。茧蜂寄生明显影响了小菜蛾幼虫精巢的内部结构(图4C),不同时期的生精细胞排列不规则,边缘模糊,没有完整的精母细胞囊,且与同期对照相比无伸长的精子,寄生引起了小菜蛾幼虫

精母细胞和精细胞的严重病变,并出现自体吞噬细胞。茧蜂寄生后第6天小菜蛾幼虫的精巢横切面如图4(D)所示,只有少量完整的细胞,正在溶解的细胞或完全溶解的细胞残体占切片的大部分面积;有少量的精子,但其形态异常,且由于细胞的病变,造成染色不均匀。

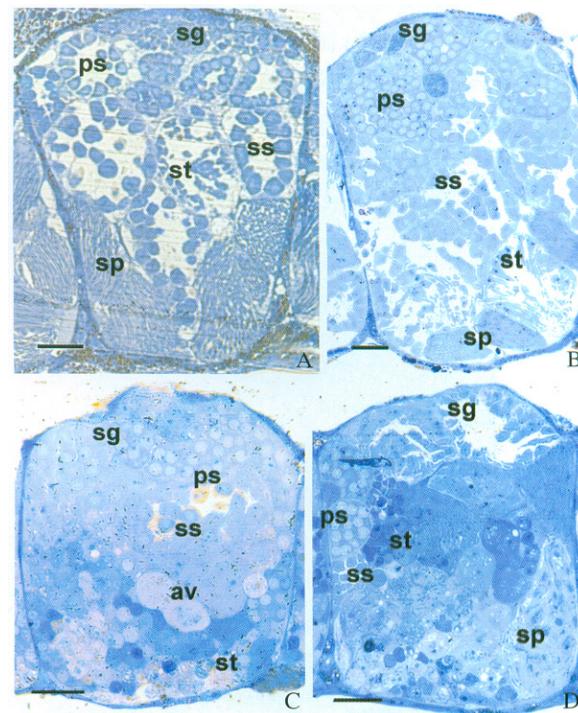


图4 菜蛾啮小蜂寄生后第5天(A)半闭弯尾姬蜂寄生后第5天(B)以及菜蛾盘绒茧蜂寄生后第5天(C)和第6天(D)小菜蛾幼虫精巢内部结构的变化

Fig. 4 Morphological changes of testes of *Plutella xylostella* larvae parasitized by *Oomyzus sokolowskii* in the 5th day (A), *Diadegma semiclausum* in the 5th day (B), and *Cotesia plutellae* in the 5th day (C) and 6th day (D)

av:自体吞噬泡 Autophagic vacuoles. 标尺 Scale bars = 30  $\mu$ m.

### 2.3 寄生引起寄主生精细胞超微结构的变化

与以上结果相一致,被小蜂寄生的寄主生精细胞的超微结构(如图5B,图6B所示)与对照(图5A,图6A)比较无明显差别,细胞核结构完整,形态正常,核内染色质分布均匀,胞质中有大量的线粒体,且各种细胞器形态正常。其精子(图7B)结构完整,鞭毛轴丝旁有一对线粒体衍生物,与未被寄生小菜蛾精子横切面(图7A)结构相同。

姬蜂寄生造成寄主精母细胞的细胞核畸形(图5C),且核膜上有一层不连续的电子致密物质(nuage material)。而对照精母细胞的细胞核呈圆形,核膜外

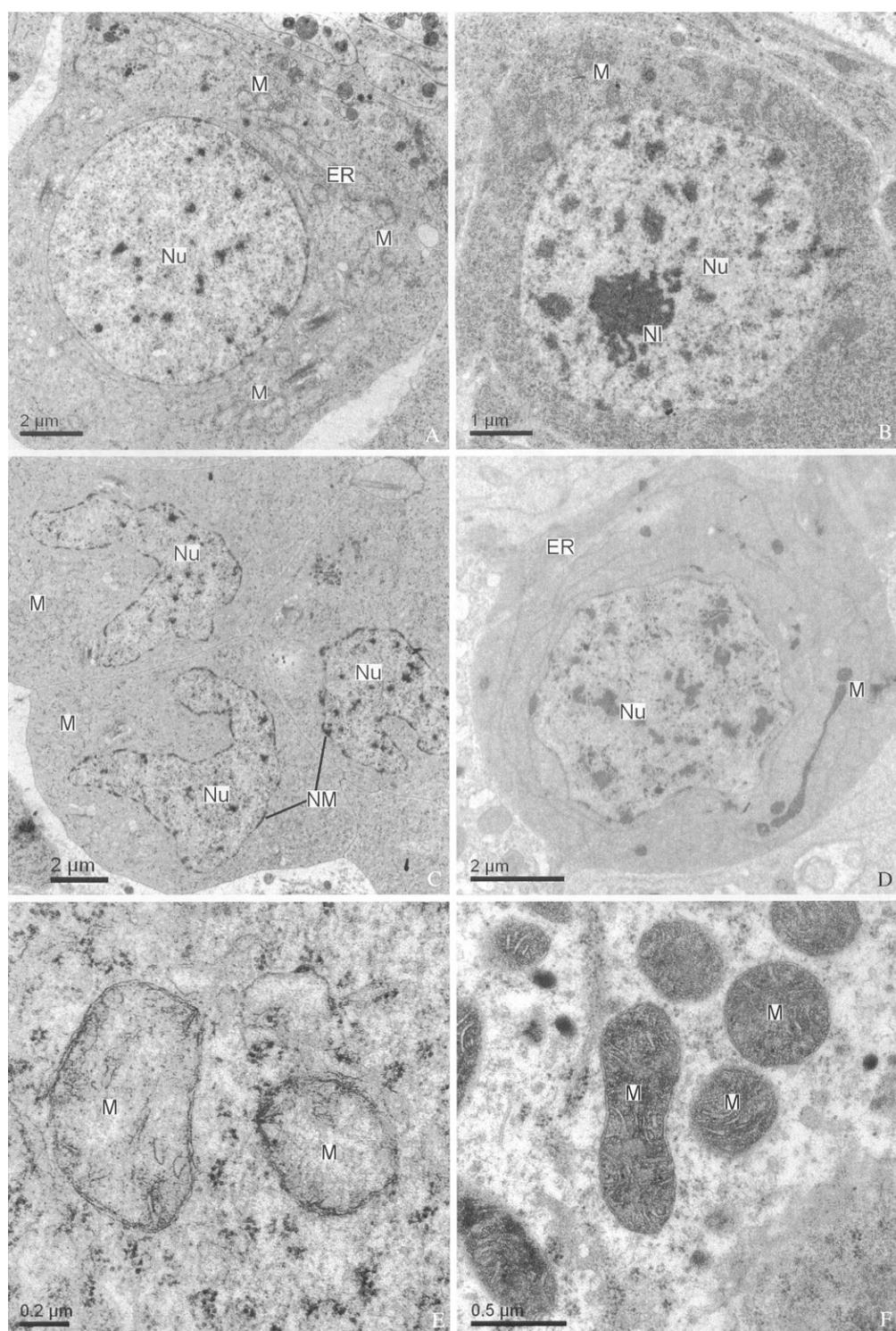


图 5 寄生对小菜蛾幼虫精母细胞及其亚细胞结构的影响

Fig. 5 Effects of parasitization on spermatocytes and their organelles of *Plutella xylostella* larvae

A: 未被寄生小菜蛾幼虫的精母细胞 Spermatocyte of the non-parasitized host larvae (control); B, C, D: 分别被菜蛾啮小蜂、半闭弯尾姬蜂和菜蛾盘绒茧蜂寄生后小菜蛾幼虫的精母细胞 Spermatocyte of the host larvae parasitized by *O. sokolowskii*, *D. semiclausum* and *C. plutellae*, respectively; E, F: 分别被菜蛾盘绒茧蜂寄生、对照小菜蛾幼虫精母细胞中的线粒体 Mitochondria in the spermatocytes of host larvae parasitized by *C. plutellae* and the control. Nu: 细胞核 Nucleus; NI: 核仁 Nucleolus; M: 线粒体 Mitochondria; ER: 内质网 Endoplasmic reticulum; NM: 电子致密物质 Nuage material. 下同 The same below.

没有电子致密物质,核内染色质呈均匀分布(图5A)。被姬蜂寄生寄主的精细胞的结构也发生变化(如图6C)染色质聚集靠近核膜,并出现染色质的超浓缩(图中白箭头所示)核膜部分破裂(黑箭头所示),且细胞整体收缩,呈多边形。姬蜂寄生后寄主精巢能形成少量的精子,且精子的细胞膜完好(图7C)。

茧蜂寄生也导致寄主精母细胞和精细胞的结构发生改变。图5(D)为正在衰退的精母细胞,细胞核膜皱缩,胞质内线粒体稀少,形态异常;内质网排列

疏松,远离细胞核,而对照精母细胞中内质网靠近细胞核紧密排列(图5A)。图6(D)是正在衰退的精细胞,其染色质浓缩并靠近核膜,部分核膜破裂;胞质中的线粒体也发生病变(图5E),内脊与对照(图5F)相比较多,其双层膜也在开始破裂,且明显肿胀。茧蜂寄生后寄主精巢不能形成正常的精子,如图7(D)所示,在精巢的精子区只有一些完全或正在溶解的精子,其中心粒相互之间没有细胞膜相隔,没有完整的线粒体衍生物,图中黑箭头所指为线粒体衍生物的残体,白箭头所指为细胞膜的碎片。

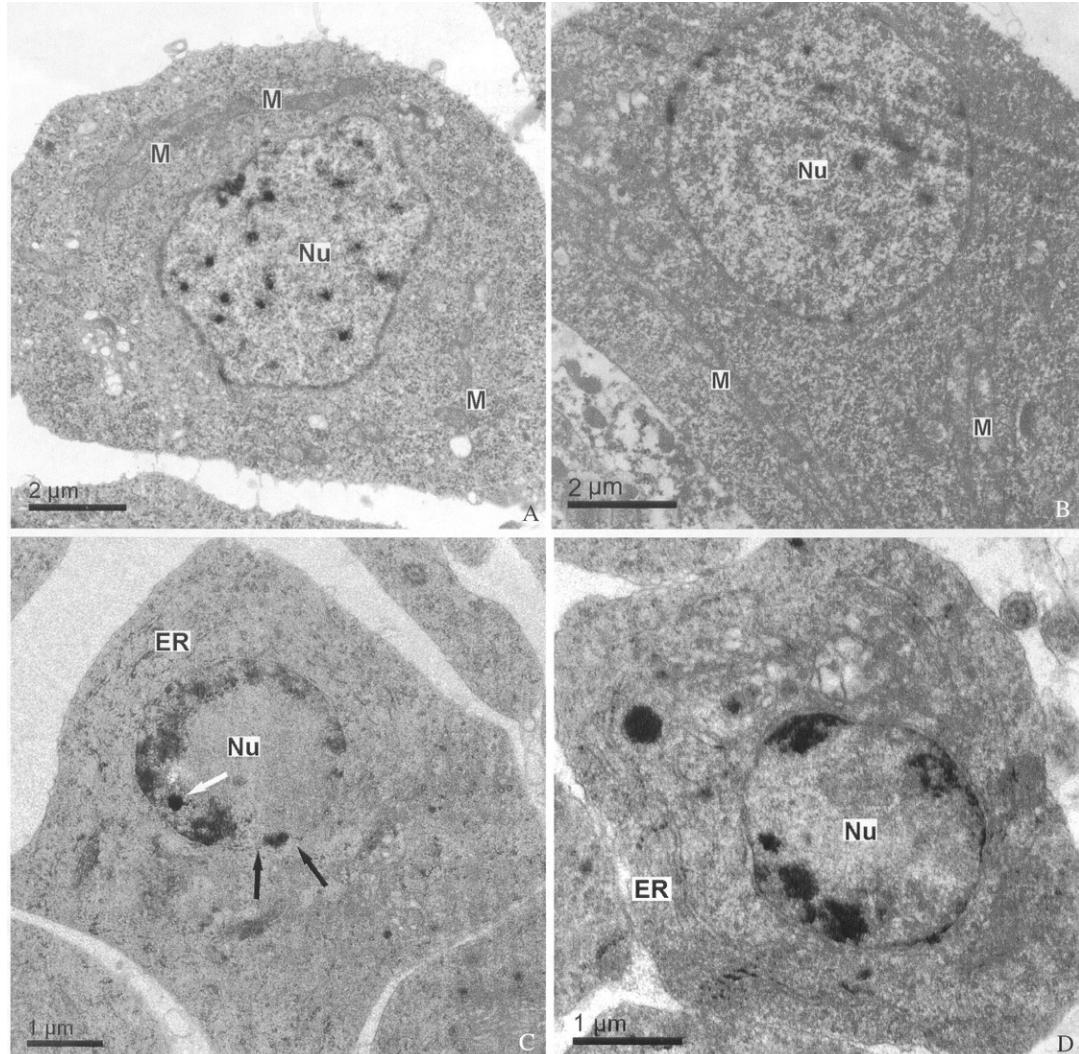


图6 被寄生后小菜蛾幼虫精细胞超微结构的变化

Fig. 6 Alteration in spermatid ultrastructure of *Plutella xylostella* larvae induced by parasitization

A:未被寄生小菜蛾幼虫的精细胞 Spermatid of the non-parasitized host larvae; B, C, D:分别被菜蛾啮小蜂、半闭弯尾姬蜂和菜蛾盘茧蜂寄生后小菜蛾幼虫的精细胞 Spermatid of the host larvae parasitized by *O. sokolowskii*, *D. semiclausum*, and *C. plutellae*, respectively; C中白箭头所指为染色质超浓缩 黑箭头所指为核膜破裂 Condensation of chromatin( white arrow ) and crack in the karyotheca( black arrow ) were observed in spermatid of *P. xylostella* larvae parasitized by *D. semiclausum*.

## 2.4 寄生对小菜蛾幼虫精母细胞的影响

被茧蜂寄生后的小菜蛾幼虫的精母细胞经低渗

处理后,大部分细胞破裂,细胞质外倾,但细胞核完好(图8A)。与之相比,对照的精母细胞(图8B)中

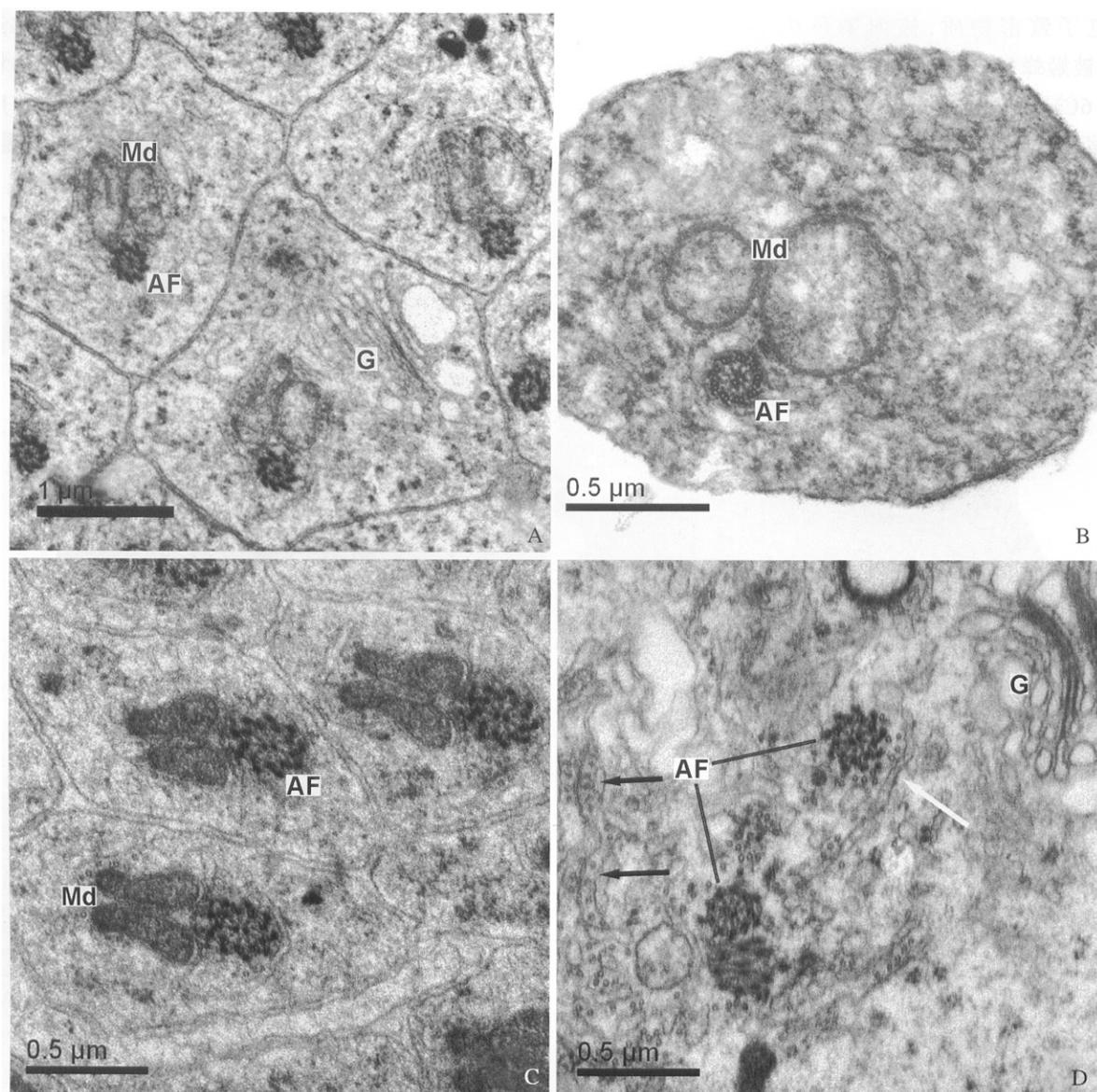


图 7 寄生对小菜蛾幼虫精子的影响

Fig. 7 Effects of parasitism on sperms of *Plutella xylostella* larvae

A: 未被寄生小菜蛾幼虫的精子 Sperms of the non-parasitized hosts ; B, C, D: 分别被菜蛾啮小蜂、半闭弯尾姬蜂和菜蛾盘绒茧蜂寄生后小菜蛾幼虫的精子 Sperms of the hosts parasitized by *O. sokolowskii*, *D. semiclausum* and *C. plutellae*, respectively ; AF: 鞭毛轴丝 Axial filament ; Md: 线粒体衍生物 Mitochondria derivation ; G: 高尔基体 Goliosome ; D 图中黑箭头所指为线粒体衍生物的残体, 白箭头所指为细胞膜的碎片 The debris ( black arrows ) and residue of cell membrane ( white arrow ) were observed in sperms of *P. xylostella* larvae parasitized by *C. plutellae* as shown in diagram D.

绝大多数细胞都很完整。

## 2.5 寄生对小菜蛾幼虫精巢总蛋白的影响

图 9 为各处理小菜蛾幼虫精巢总蛋白的 SDS-PAGE 图谱, 被小蜂和姬蜂寄生后小菜蛾幼虫精巢的蛋白质条带与对照相比没有变化。茧蜂寄生后造成小菜蛾幼虫精巢中分子量约为 63.4 kD 的主蛋白缺失, 而其他蛋白质条带与对照没有明显差别。

表 1 显示了 4 个处理的小菜蛾幼虫精巢总蛋白

含量, 小蜂寄生后小菜蛾幼虫每对精巢总蛋白含量为  $6.88 \pm 0.18 \mu\text{g}$ , 与对照的  $6.99 \pm 0.45 \mu\text{g}$  没有显著差异。姬蜂寄生后小菜蛾幼虫精巢的总蛋白含量减少到  $2.59 \pm 0.15 \mu\text{g}$ , 与对照差异达到极显著水平。茧蜂寄生后小菜蛾幼虫精巢的总蛋白含量仅为  $1.10 \pm 0.08 \mu\text{g}$ 。

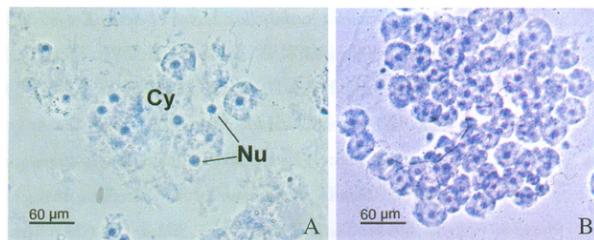


图 8 菜蛾盘绒茧蜂寄生后(A)和未被寄生(B)  
的小菜蛾幼虫精母细胞

Fig. 8 Spermatocytes of *Plutella xylostella* larvae parasitized by *C. plutellae* (A) and non-parasitized (B)  
Cy: 细胞质 Cytoplasm; Nu: 细胞核 Nucleus.

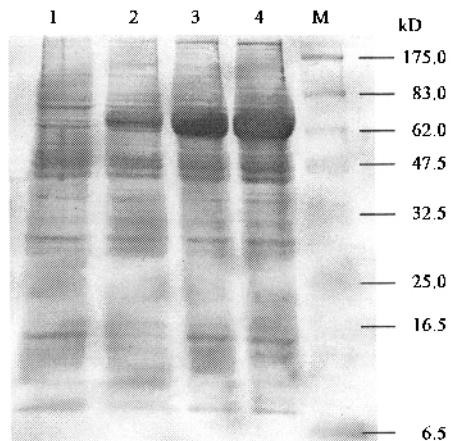


图 9 各处理小菜蛾幼虫精巢总蛋白 SDS-PAGE 图谱

Fig. 9 SDS-PAGE profiles of total proteins in testes of *Plutella xylostella* larvae in different treatments

M: 蛋白质分子量标准 Protein molecular weight marker; 1: 菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia plutellae*; 2: 半闭弯尾姬蜂 *Diadegma semiclausum*; 3: 菜蛾啮小蜂 *Oomyzus sokolowskii*; 4: 小菜蛾 *P. xylostella*.

表 1 各处理小菜蛾幼虫精巢中总蛋白含量的比较

Table 1 Content of total proteins in testes of *Plutella xylostella* larvae in different treatments

处理 Treatments	蛋白含量(μg/对) Content of proteins (μg per pair)
对照 Control	6.99 ± 0.45 A
小蜂寄生 Parasitized by <i>O. sokolowskii</i>	6.88 ± 0.18 A
姬蜂寄生 Parasitized by <i>D. semiclausum</i>	2.59 ± 0.15 B
茧蜂寄生 Parasitized by <i>C. plutellae</i>	1.10 ± 0.08 C

注 Notes: 表中数据为平均值 ± 标准差, 同列数据后不同字母表示差异极显著 ( $P \leq 0.01$ )。The values (mean ± SD) in the table followed by different letters in the same column are significantly different at  $P \leq 0.01$ .

起寄主的去势程度最强, 姬蜂次之, 而小蜂寄生没有影响寄主精子发生过程。Tagashira 和 Tanaka (1998) 报道了 PDV 是造成寄生性去势的主要因子。从菜蛾盘绒茧蜂的 2 种主要寄生因子 (PDV 和畸形细胞) 对小菜蛾的生理作用的研究表明, 畸形细胞对寄主脂肪体结构和功能的影响是显著的, 并在调控寄主生理过程中加强了 PDV 的作用 (白素芬等, 2002, 2003, 2005a, 2005b)。因此, 畸形细胞可能是造成茧蜂引起的寄生性去势程度比姬蜂强的原因, 同时, 不同种属的 PDV 对寄主的作用机制也会有所不同。小蜂没有引起寄主的去势, 说明其毒液中不含抑制寄主精子发生的成分。因此, 寄生因子的差异是造成 3 种蜂对同一寄主去势程度不同的内在原因。

另一方面, 从 3 种寄生蜂幼虫营养摄取的方式来看, 也存在很大差异。茧蜂幼虫只从寄主血淋巴中摄取营养, 要与寄主组织争夺糖原、脂类等资源, 必然会抑制寄主组织器官发育, 从而增加幼蜂自身可用的资源。姬蜂幼虫初期与寄主组织竞争营养资源, 最终则要食尽寄主组织、器官才能结茧化蛹, 因此幼蜂从寄主血淋巴中摄取营养的同时, 一定程度上允许寄主组织、器官的发育至预蛹, 以供末龄幼蜂直接取食。小蜂幼虫的营养摄取方式与姬蜂相类似, 但允许寄主正常发育到蛹期, 再进行取食。因此 3 种蜂从寄主体内摄取营养的方式不同也可能是造成去势程度差异的原因。

昆虫精子发生受内激素的控制, 血淋巴中 20-羟基蜕皮酮滴度高峰刺激精母细胞进入减数分裂中期 (Friedländer 和 Reynolds, 1988), 不出现蜕皮甾类的高峰, 会导致精母细胞在进入减数分裂中期以前溶解, 也会引起精子的溶解 (Friedländer 和 Reynolds, 1992)。另外, 鳞翅目昆虫精巢鞘也能分泌少量的蜕皮甾类, 促使精母细胞发育 (Loeb *et al.*, 1982, 1984)。因此, 寄生因子破坏寄主精巢鞘的结构也是精子发生受阻的重要因素 (Reed 和 Backage, 1997)。另一方面, 高滴度的保幼激素抑制精子发生 (Kajiura *et al.*, 1993)。Perveen (2000) 研究报道了保幼激素类似物定虫隆 (chlorfluazuron) 会抑制斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫的精子发生, 并导致精巢总蛋白含量的下降, 进一步证实了昆虫的精子发生受激素的控制。被茧蜂寄生的小菜蛾幼虫不能进入预蛹期, 表明寄主体内激素平衡受到严重影响, 从而导致精母细胞和精细胞的病变和精子的溶解; 姬蜂寄生后的小菜蛾幼虫能进入预蛹期, 但不能化蛹, 证明寄主体内激素平衡变化弱于茧蜂寄生的寄主; 而被

## 3 讨论

### 3.1 寄生对小菜蛾幼虫精巢发育的影响

3 种寄生蜂分别寄生小菜蛾后, 以茧蜂寄生引

小蜂寄生的寄主能够正常化蛹,说明小蜂寄生没有影响寄主体内的激素平衡。因此,不同种类的寄生蜂对寄主体内激素的调控程度不同,必然对寄主精子发生产生不同程度的影响。

Digilio 等(2000)研究指出蚜茧蜂 *Aphidius ervi* 的毒液蛋白会引起寄主蚜虫卵母细胞的程序化死亡。Polanska 等(2005)发现滞育大蜡螟 *Galleria mellonella* 的精母细胞发生凋亡,总结其现象有:细胞有不同程度的收缩,切面呈多边形;细胞核肿胀或核膜皱缩,部分染色质超浓缩,逐渐聚集并靠近核膜;以及出现自体吞噬泡和凋亡小体。茧蜂和姬蜂寄生都引起寄主精母细胞的退化,但退化现象明显不同,被茧蜂寄生的小菜蛾精母细胞肿胀,细胞核膜皱缩,有自体吞噬泡出现,且低渗处理时其精母细胞极易被胀破。而姬蜂寄生引起小菜蛾精母细胞的细胞核畸形,且核膜上出现电子致密物质。两种寄生蜂引起精细胞退化的现象却很相似,病变的精细胞都出现染色质聚集并靠近核膜。因此,茧蜂和姬蜂寄生可能引起了寄主生精细胞的凋亡。

### 3.2 寄生对寄主精巢总蛋白含量与种类的影响

蛋白质作为生命代谢的基本物质是寄生蜂幼虫与寄主组织竞争的主要资源,因此对精巢总蛋白含量的比较是分析寄生性去势程度差异的直接证据。Miller 等(1990)研究表明,烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 的精巢鞘也是合成蛋白质的主要场所,能分泌 76 kD 和 82 kD 的两种储藏蛋白,而寄生会破坏寄主精巢鞘的结构,必然影响其蛋白质合成功能。茧蜂和姬蜂是否因此导致寄主精巢蛋白质含量的下降有待进一步研究。蛋白质是昆虫精子发生过程中的基本物质,其含量的降低,种类的缺失,必定阻碍寄主的精子发生,从而导致精巢的萎缩。如表 1 所示 3 种寄生蜂寄生后寄主精巢总蛋白含量的变化与寄生对寄主精巢的抑制程度一致。茧蜂寄生导致寄主精巢中分子量约为 63.4 kD 的主蛋白缺失,该蛋白的功能尚不明确,是否是因为该蛋白的缺失而中断了精子发生的过程,引起了精子的溶解,这还有待进一步研究。

### 参 考 文 献( References )

Bai SF, Chen XX, Cheng JA, Fu WJ, He JH, 2002. Development and ultrastructure of *Cotesia plutellae* teratocytes. *Journal of Zhejiang University*, 28(6): 635–640. [白素芬,陈学新,程家安,符文俊,何俊华,2002. 菜蛾盘绒茧蜂畸形细胞发育及其超微形态结构. 浙江大学学报, 28(6): 635–640]

Bai SF, Chen XX, Cheng JA, Fu WJ, He JH, 2003. Characterization of *Cotesia plutellae* polydnavirus and its physiological effects on the

diamondback moth, *Plutella xylostella* larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 46(4): 401–408. [白素芬,陈学新,程家安,符文俊,何俊华,2003. 菜蛾盘绒茧蜂多分 DNA 病毒的特性及其对小菜蛾幼虫的生理效应. 昆虫学报, 46(4): 401–408]

Bai SF, Chen XX, Cheng JA, Fu WJ, He JH, 2005a. Effects of parasitic factors of the parasitoid *Cotesia plutellae* on fat body structure of the host *Plutella xylostella* larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 48(2): 166–171. [白素芬,陈学新,程家安,符文俊,何俊华,2005a. 菜蛾盘绒茧蜂主要寄生因子导致的寄主小菜蛾幼虫脂肪体结构的变化. 昆虫学报, 48(2): 166–171]

Bai SF, Chen XX, Cheng JA, Fu WJ, He JH, 2005b. Effects of host age at the time of oviposition, superparasitism and host starvation after parasitism on the growth of *Cotesia plutellae* larvae and their teratocytes. *Acta Entomologica Sinica*, 48(3): 331–336. [白素芬,陈学新,程家安,符文俊,何俊华,2005b. 寄主龄期、过寄生和寄主饥饿处理对菜蛾盘绒茧蜂幼蜂及畸形细胞发育的影响. 昆虫学报, 48(3): 331–336]

Chang PA, Song FZ, Liu MX, Zhan SF, 2001. Studies on mitotic chromosomes of eri silkworm (*Philosamia ricini*). *Journal of Southwest Agricultural University*, 23(4): 371–373. [常平安,宋方洲,刘明萱,占世丰,2001. 蕺麻蚕有丝分裂染色体的研究. 西南农业大学学报, 23(4): 371–373]

Digilio MC, Isidoro N, Tremblay E, Pennacchio F, 2000. Host castration by *Aphidius ervi* venom proteins. *Journal of Insect Physiology*, 46: 1 041–1 050.

Friedländer M, Reynolds SE, 1988. Meiotic metaphases are induced by 20-hydroxyecdysone during spermatogenesis of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology*, 34: 1 013–1 019.

Friedländer M, Reynolds SE, 1992. Intratesticular ecdysteroid titres and the arrest of sperm production during pupal diapause in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology*, 38: 693–703.

Fu JY, Zhang QW, Cai QN, Xu J, Ma XM, Zhang LS, 2005. Observations on mitotic and meiotic chromosomes of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, 48(1): 135–138. [付建业,张青文,蔡青年,徐静,马晓牧,张礼生,2005. 甜菜夜蛾细胞分裂期染色体的观察. 昆虫学报, 48(1): 135–138]

Kajiura Z, Nakagaki M, Takei R, 1993. Spermiogenesis of the testes of juvenile hormone-treated silkworm larvae, *Bombyx mori*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 106A: 495–499.

Liu SS, Wang XG, Shi ZH, Guo SJ, 2000. Biology of *Oomyzus sokolowskii* and effect of temperature on its population parameters. *Acta Entomologica Sinica*, 43(2): 159–167. [刘树生,汪信庚,施祖华,郭世俭,2000. 菜蛾嗜小蜂的生物学及温度对其种群增长的影响. 昆虫学报, 43(2): 159–167]

Loeb MJ, Brandt EP, Birnbaum MJ, 1984. Ecdysteroid production by testes of the tobacco budworm, *Heliothis virescens*, from last larval instar to adult. *Journal of Insect Physiology*, 30: 375–381.

Loeb MJ, Woods CW, Brandt EP, Borkovec AB, 1982. Larval testes of the tobacco budworm: a new source of insect ecdysteroids. *Science*, 218: 896–898.

Miller SG, Leclerc RF, Seo SJ, Malone C, 1990. Synthesis and transport of storage proteins by testes in *Heliothis virescens*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 14(3): 151-170.

Perveen F, 2000. Effects of sublethal dose of chlorfluazuron on testicular development and spermatogenesis in the common cutworm, *Spodoptera littoralis*. *Physiological Entomology*, 25: 315-323.

Polanska MA, Ciuk MA, Cymborowski B, Bebas P, 2005. Germ cell death in the testis and its relation to spermatogenesis in the wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), effects of facultative diapause. *Journal of Experimental Zoology*, 303A: 1013-1029.

Reed DA, Beckage NE, 1997. Inhibition of testicular growth and development in *Manduca sexta* larvae parasitized by the braconid wasp *Cotesia congregata*. *Journal of Insect Physiology*, 43: 29-38.

Tagashira E, Tanaka T, 1998. Parasitic castration of *Pseudaletia separata* by *Cotesia kariyai* and its association with polydnavirus gene expression. *Journal of Insect Physiology*, 44: 733-744.

Wang XG, Liu SS, He JH, Guo SJ, 1998. Investigations on parasitoids of diamondback moth in the suburb areas of Hangzhou. *Acta Phytophylacica Sinica*, 25(1): 20-26. [汪信庚, 刘树生, 何俊华, 郭世俭, 1998. 杭州效区小菜蛾寄生昆虫调查. *植物保护学报*, 25(1): 20-26]

(责任编辑:黄玲巧)